

ФАРМАКОГЕНЕТИКА

DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-1-16-21

ВЛИЯНИЕ ЦИТОФЛАВИНА НА АПОПТОЗ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НОСИТЕЛЬСТВА ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ЦИТОХРОМА CYP2C9 В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

О. В. Ромащенко¹

С целью определения характера влияния цитофлавина на апоптоз лейкоцитов крови пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) в зависимости от наличия полиморфизма гена цитохрома CYP2C9*2 C430T были обследованы 90 пациентов с ИБС: стабильной стенокардией напряжения. Методом полимеразной цепной реакции определяли генные полиморфизмы цитохрома CYP2C9*2 C430T. Методом ДНК-комет, который позволяет оценить уровень апоптоза белых клеток крови, по разработанному авторами способу в тестах *in vitro* оценивали влияние цитофлавина в терапевтической концентрации на ДНК лейкоцитов крови больных. При частотном анализе гена CYP2C9*2 C430T среди пациентов было установлено, что 75 человек (83 %) гомозиготны по дикому аллелю (генотип CC), 15 человек (17 %) — гетерозиготны (генотип CT), гомозиготных лиц по полиморфному аллелю (генотип TT) в выборке не обнаружено. У носителей полиморфного гена цитохрома CYP2C9*2 C430T (генотипа CT) наблюдали более сильное повреждение ДНК в исходном статусе ($11,00 \pm 3,21$) % повреждённых клеток в сравнении с ($3,43 \pm 1,13$) % у пациентов с генотипом CC ($p = 0,02$). При введении цитофлавина в терапевтической концентрации *in vitro* обнаружили тенденцию разнонаправленного изменения состояния ДНК лейкоцитов в зависимости от наличия полиморфизма гена CYP2C9*2 C430T. Так, у пациентов с диким геном CYP2C9*2 C430T при введении цитофлавина *in vitro* обнаружили незначительное недостоверное увеличение количества апоптотических лейкоцитов крови, в то время как у пациентов с полиморфным геном CYP2C9*2 C430T (генотипом CT) обнаружили чёткую тенденцию снижения количества апоптотических клеток практически до нулевых значений показателя ($p = 0,087$), что позволяет выдвинуть гипотезу о возможной способности цитофлавина модулировать стабильность ДНК в зависимости от состояния генома и о необходимости разработки персонализированных подходов к использованию цитофлавина у пациентов с ИБС в клинической практике.

Ключевые слова: фармакогенетика; полиморфизм гена CYP2C9*2 C430T; ишемическая болезнь сердца; метаболические корректоры; цитофлавин; персонализированная медицина; исследование *in vitro*.

ВВЕДЕНИЕ

Высокая распространённость и смертность от ишемической болезни сердца (ИБС) в нашей стране и за рубежом, несмотря на принятые стандарты лечения, нацеливают на необходимость поиска новых подходов к лекарственной коррекции данного состояния [4]. Патогенетически обоснованным и достаточно перспективным является использование препаратов метаболического ряда в комплексном лечении ИБС [1], однако их назначение в реальной клинической практике огра-

ничено из-за наблюдаемой неоднозначной эффективности и отсутствия доказательств влияния на продолжительность жизни больных [5]. Одним из возможных решений указанной проблемы может быть необходимость разработки персонализированных подходов к назначению метаболических корректоров у кардиологических больных. В этой связи представляет интерес изучение фармакогенетического фактора как одной из главных составляющих индивидуального выбора препаратов метаболического ряда у пациентов с ИБС.

Предметом нашего изучения явился препарат метаболического действия цитофлавин (ООО “НТФФ “ПОЛИСАН” Санкт-Петербург), который согласно официальной инструкции по применению относится к груп-

¹ Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Россия, 308015, Белгород, ул. Победы, д.85; Медицинский институт, Россия РФ, 308015, Белгород, ул. Победы, д. 85.

пе препаратов, улучшающих мозговой метаболизм. Цитофлавин активизирует процессы клеточного дыхания и энергообразования, улучшает процессы утилизации кислорода тканями [9, 12], восстанавливает активность ферментов, обеспечивающих антиоксидантное действие [6], улучшает мозговое и коронарное кровообращение, проявляет свойства кардиопротектора [13, 15], повышает толерантность к физической нагрузке [2].

Цитофлавин представляет собой комплексный препарат, состоящий из 4 компонентов — янтарной кислоты, инозина, рибофлавина и никотинамида. В механизме синергетического действия компонентов цитофлавина заложена потенциальная возможность влияния данного препарата на функцию эндотелия сосудов, о чём мы уже упоминали в нашей предыдущей работе [14]. Так, янтарная кислота, как внутриклеточный метаболит цикла Кребса, под действием фермента сукцинатдегидрогеназы (СДГ) трансформируется в следующий метаболит — фумаровую кислоту, стимулируя аэробный гликолиз и тканевое дыхание; рибофлавин (витамин В₂) является флавиновым коферментом СДГ и, следовательно, активизирует работу СДГ и других ферментов цикла Кребса; никотинамид (витамин РР) в клетках трансформируется в форму никотинамидадениннуклеотида (НАД) и его фосфата (НАДФ), активируя никотинамид-зависимые ферменты цикла Кребса, необходимые для клеточного дыхания и стимуляции синтеза АТФ; инозин (рибоксин) является предшественником АТФ, обладает способностью активировать ряд ферментов цикла Кребса, стимулируя синтез ключевых ферментов-нуклеотидов — флавинадениннуклеотида (ФАД) и НАД. В процессе метаболизма в организме инозин превращается в гипоксантиннуклеотид — инозинмонофосфат (ИМФ), который может преобразовываться как в аденозинмонофосфат (АМФ) трансформированием с аспаргиновой кислотой, так и в гуанозинмонофосфат (ГМФ), превращаясь вначале в ксантинмонофосфат, а затем подвергаясь прямому аминированию [11]. Следовательно, при введении инозина увеличивается содержание субстрата ГМФ в эндотелии, что способствует росту концентрации цГМФ и потенцированию сосудорасширяющего эффекта. В этой связи гипотетически можно предположить, что эффективность цитофлавина может зависеть от функциональной активности ферментов, регулирующих тонус сосудов.

Одним из таких ферментов является цитохром Р-450 СYP2C9, поскольку данный цитохром, наряду с функцией биотрансформации ксенобиотиков, обладает функцией синтеза из полиненасыщенных жирных кислот клеточных мембран эйкозаноидов — гормонов местного действия, высокоактивных медиаторов, которые принимают участие в различных процессах, в частности, в гемостазе и вазодилатации [22]. Биохимизм реакции следующий: под действием фосфолипазы А₂ из фосфолипидов мембран эндотелиальных клеток

высвобождается арахидоновая кислота, которая 3 путями преобразуется в различные эйкозаноиды — простагландины под действием циклооксигеназы, лейкотриены под действием липоксигеназы и эпоксиэйкозотриеновые кислоты под действием цитохромов посредством Р450-монооксигеназного пути. Эти эпоксиэйкозотриеновые кислоты снижают свёртываемость крови, уменьшают агрегацию тромбоцитов, расширяют сосуды, стимулируют ангиогенез, обладают противовоспалительным действием, а также защищают сердце от “повреждений” при ишемии-реперфузии. Эпоксиэйкозотриеновые кислоты вызывают данные функциональные эффекты, активируя рецептор-опосредованные сигнальные пути и ионные каналы [22].

Цитохром СYP2C9 представляет собой белок с молекулярной массой 55 кД, состоящий из 490 аминокислотных остатков. Ген данного фермента находится в локусе 10q24.1.24.3 10-й хромосомы [10]. Цитохром СYP2C9 синтезируется в клетках печени и участвует в биотрансформации 10 % терапевтически важных лекарственных препаратов, таких как варфарин, фенитоин, ибупрофен, диклофенак, лозартан и др. [18, 21, 22].

Полиморфный вариант гена цитохрома СYP2C9*2 обуславливает синтез фермента с изменённой каталитической активностью (лишь 12 % от активности дикого типа СYP2C9) [19]. Поэтому носителей варианта СYP2C9*2 как в гомозиготном, так и в гетерозиготном состоянии считают “медленными” метаболиторами, у них снижен метаболизм лекарственных средств, которые в высоких концентрациях накапливаются в организме, что может приводить к появлению нежелательных лекарственных реакций, вплоть до токсических [20].

Поскольку ни в официальной инструкции по медицинскому применению, ни на сайте PharmGKB не представлена информация о ферментах биотрансформации компонентов цитофлавина, нами был выполнен анализ наиболее вероятных ферментов биотрансформации цитофлавина, имеющих клинически значимые генные полиморфизмы с помощью прогнозных систем PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances — прогноз спектров биологической активности органических соединений) и PharmaExpert в лаборатории структурно-функционального конструирования лекарств ГУ НИИ биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича РАМН (Москва). Одним из наиболее вероятных ферментов биотрансформации компонентов цитофлавина, имеющих клинически значимый генный полиморфизм, оказался цитохром СYP2C9*2, что и послужило основанием для выполнения настоящего исследования.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния цитофлавина на апоптоз лейкоцитов крови у пациентов с ИБС в зависимости от наличия полиморфизма гена цитохрома СYP2C9*2 С430Т в условиях *in vitro*.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования явились лейкоциты крови 90 пациентов с ИБС: стабильной стенокардией напряжения (63 мужчин и 27 женщин в возрасте от 37 до 81 года, средний возраст больных составил $(59,26 \pm 0,74)$ лет. Проводили клиническое обследование больных в исходном статусе, при поступлении в отделения кардиологии № 1 и 2 Белгородской областной клинической больницы Святителю Иоасафа. Каждый участник был ознакомлен с программой исследования и подписал информированное согласие. У большинства больных стенокардия сочеталась с гипертонической болезнью — 80 (89,4 %), нарушениями ритма — 22 (24,4 %), постинфарктным кардиосклерозом — 44 (48,8 %), хронической сердечной недостаточностью — 85 (94,4 %), у некоторых — с сахарным диабетом 2 типа — 21 (23,1 %). Диагноз стабильной стенокардии напряжения верифицировали после проведения клинического, инструментального, лабораторного обследования согласно рекомендациям Всероссийского научного общества кардиологов (ВНОК) (2008) и Европейского общества кардиологов (ЕОК) (2013).

Программа обследования больных включала в себя выполнение общих клинических методов исследования, инструментальных и лабораторных, в том числе электрокардиографии, эходоплеркардиографии, коронарографии, тредмил-теста, общего и биохимического анализов крови с определением коагулограммы и других показателей, согласно рекомендациям ВНОК (2008) и ЕОК (2013).

Генные полиморфизмы аллелей цитохрома CYP2C9*2 C430T выявляли методом полимеразной цепной реакции с помощью готового набора реактивов фирмы “Литех” (Россия) в лаборатории популяционной генетики и генотоксикологии НИУ “БелГУ”.

Индивидуальную чувствительность ДНК лейкоцитов крови больных на введение цитофлавина изучали методом ДНК-комет тестированием препарата *in vitro* по разработанному нами способу [16]. Технология выделения лейкоцитов крови следующая: утром натощак у пациентов из локтевой вены выполняли забор крови асептически с помощью вакуумных пробирок типа “Vacutainer”, содержащих антикоагулянт ЭДТА, затем пробирку с кровью помещали в термостат и при температуре 37 °C выдерживали в вертикальном положении на протяжении 1 ч, после чего образовавшееся на разделе фаз “лейкоцитарное кольцо” аккуратно отбирали пипеткой и помещали в среду RPMI-1640 (без L-глутамин). Далее в пробирку с лейкоцитарной взвесью добавляли лекарственный препарат цитофлавин в количестве, необходимом для создания терапевтической концентрации препарата, соответствующей введению 10 мл цитофлавина в 200 мл раствора NaCl внутривенно капельно пациенту (согласно официальной инструкции по медицинскому применению). Конечная концентрация компонентов цитофлавина в ин-

кубационной среде (как в крови человека) составила: янтарной кислоты 0,192 мг/мл, никотинамида 0,019 мг/мл, рибоксина 0,038 мг/мл, рибофлавина 0,004 мг/мл. Клеточную суспензию с лекарственным препаратом инкубировали при 37 °C в течение 3 ч. Дальнейшая процедура анализа соответствовала принятым методическим рекомендациям [7]. Методом ДНК-комет определяли следующие показатели: количество повреждённых клеток (%), количество апоптотических клеток (%), степень повреждения (от 1 до 4) ДНК. Исследования методом ДНК-комет проводили в лаборатории популяционной генетики и генотоксикологии НИУ “БелГУ”.

Статистическую обработку материала выполняли методом вариационной статистики. Количественные показатели оценивали на предмет соответствия нормальному распределению с помощью теста Колмогорова — Смирнова. Для показателей, имеющих распределение, близкое к нормальному, осуществляли расчет среднего арифметического значения, стандартного (среднеквадратического) отклонения и ошибки среднего. Для количественных показателей, имеющих распределение, отличное от нормального, а также для порядковых показателей рассчитывали среднее значение, медиану, 25 и 75 % квартили. Различия между 2 группами оценивали по *t*-критерию Стьюдента, *U*-критерию Манна — Уитни. Результаты считали статистически достоверными при $p < 0,05$. Проводили корреляционный анализ. Использовали критерий χ^2 для оценки соответствия выборочного распределения заранее заданным распределениям (закону Харди — Вайнберга). Для оценки результатов исследования методом ДНК-комет использовали программное обеспечение CometAssey. При проведении расчетов использовали программы “Microsoft Excel 2007” и “SPSS for Windows 11.0”.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе гена CYP2C9*2 C430T было установлено, что 75 человек (83 %) гомозиготны по дикому аллелю (генотип CC), а 15 человек (17 %) — гетерозиготны (генотип CT), т.е. вместе с диким аллелем несут полиморфный. Типичная фореграмма представлена на рис. 1. Гомозиготных лиц по полиморфному аллелю (генотип TT) в выборке обнаружено не было. Таким образом, частота встречаемости в популяции пациентов г. Белгорода с ИБС полиморфного аллеля гена CYP2C9 равна 0,092, а дикого — 0,908. Отмечается невысокий избыток гетерозигот (коэффициент инбридинга $F = -0,102$), а также низкое значение показателя генетической изменчивости индекса Шеннона ($I = 0,308$). Однако при этом генотипическая структура исследуемой выборки в целом соответствует закону Харди — Вайнберга ($\chi^2 = 0,953$, $p = 0,329$, $Df = 1$), что позволяет говорить об относительной стабильности популяции по данному гену.

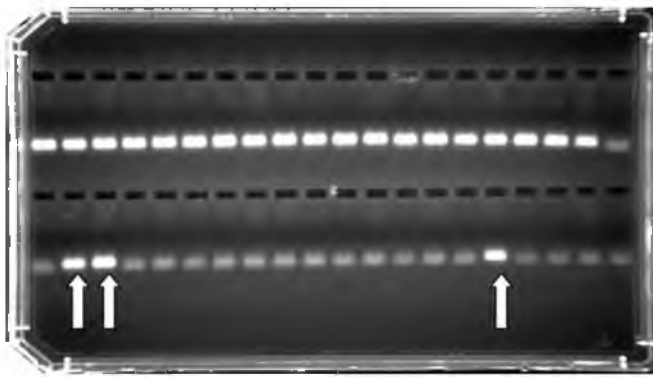


Рис. 1. Электрофореграмма полиморфизма гена CYP2C9*2 C430T у пациентов с ИБС. Стрелочками обозначены гетерозиготы по полиморфному аллелю СТ. Необозначенные позиции соответствуют гомозиготам по дикому аллелю СС.

Сравнительный анализ между группами пациентов, имеющих дикий и полиморфный ген CYP2C9*2 C430T выявил ряд достоверных отличий (табл. 1, 2). У носителей полиморфного гена цитохрома CYP2C9*2 C430T (генотипа СТ) наблюдали ряд особенностей: более высокий функциональный класс стенокардии (различия на уровне тенденции); избыточная масса тела; относительно большая свёртывающая способность крови в пределах нормальных значений коагулограммы; более сильное повреждение ДНК в исходном статусе. При введении цитофлавина *in vitro* в терапевтической концентрации обнаружили модулирующее влияние данного лекарственного препарата на процесс апоптоза лейкоцитов крови при изменении состояния ДНК в зависимости от наличия полиморфизма гена CYP2C9*2 C430T: у пациентов с диким геном (генотипом СС) обнаружили незначительное недостоверное увеличение количества апоптотических лейкоцитов

Таблица 1. Сравнительный анализ групп пациентов с ИБС, имеющих дикий и полиморфный ген CYP2C9*2 C430T, параметры с нормальным распределением ($M \pm m$)

Показатель	Пациенты с		P
	диким геном (CC)	полиморфным геном (CT)	
Масса тела, кг	85,03 ± 2,07	99,24 ± 4,46	0.002
Индекс Кетле, кг/м ²	29,90 ± 0,65	33,14 ± 1,37	0.020
Протромбиновый индекс, %	96,29 ± 1,22	100,00 ± 0	0.003
Международное нормализованное отношение (МНО)	1,07 ± 0,03	1,00 ± 0	0.036
ДНК: количество повреждённых клеток, %	3,43 ± 1,13	11,00 ± 3,21	0.020

Достоверность различий оценивали по *t*-критерию Стьюдента.

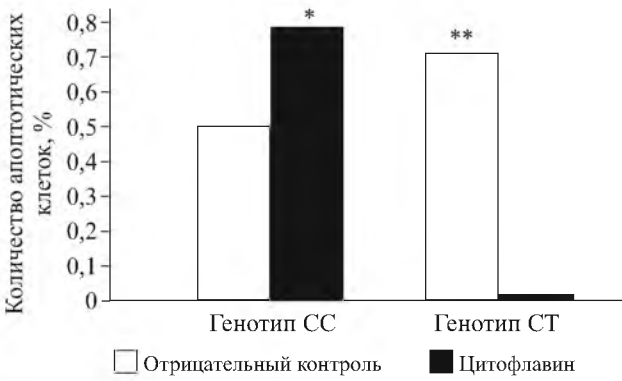


Рис. 2. Количество апоптотических лейкоцитов крови пациентов ИБС с генотипами СС и СТ цитохрома CYP2C9*2 C430T в исходном состоянии (отрицательный контроль) и при внесении в пробу цитофлавина (тестирование *in vitro*). Достоверность различий оценивали по *t*-критерию Стьюдента: * $p = 0,083$ при сравнении между генотипами СС и СТ по цитофлаину; ** $p = 0,087$ при сравнении между группами по генотипу СТ.

крови, в то время как у пациентов с полиморфным геном (генотипом СТ) обнаружили чёткую тенденцию снижения количества апоптотических клеток практически до нулевых значений показателя ($p = 0,087$) (рис. 2). Наличие у человека полиморфного гена CYP2C9*2 обуславливает синтез так называемого “медленного” фермента цитохрома 2C9, что в свою очередь приводит не только к снижению скорости биотрансформации лекарственных препаратов, о чём уже сказано выше [8], но и к нарушению синтеза эйкозаноидов, дефицит которых может приводить к повышению свёртываемости крови, увеличению агрегации тромбоцитов, вазоконстрикции, провоспалительным эффектам (избыточному образованию свободных радикалов кислорода). Обнаруженное нами явление ассоциации наличия полиморфного гена CYP2C9*2 с большей поврежденностью ДНК, избыточной массой тела, относительно большей свёртывающей способностью крови (в пределах нормальных значений коагулограммы) на фоне тенденции к более тяжёлому клиническому состоянию

Таблица 2. Сравнительный анализ групп пациентов с ИБС, имеющих дикий и полиморфный ген CYP2C9*2 C430T, параметры с распределением отличным от нормального

Показатель	Пациенты с		P
	диким геном (CC)	полиморфным геном (CT)	
ФК стенокардии	2,33/3,00 (2,00, 3,00)	2,79/3,00 (2,00, 3,00)	0.070
Ожирение, степень	0,64/0,00 (0,00, 1,00)	1,24/1,00 (0,00, 2,00)	0.039
ДНК: степень повреждения	1,60/2,00 (0,50, 2,00)	2,45/2,00 (2,00, 3,00)	0.023

Примечание. Числитель — среднее арифметическое, знаменатель — медиана, 25 и 75 % квартиль. Достоверность различий оценивали по *U*-критерию Манна — Уитни.

больных в виде более высокого функционального класса стенокардии вполне можно объяснить существенным снижением синтеза эйкозаноидов — эпокси-эйкозотриеновых кислот и активацией свободнорадикального окисления, вследствие которого может разрушаться ДНК [17].

Выявленная нами способность цитофлавина по-разному влиять на состояние ДНК лейкоцитов крови у пациентов с ИБС в зависимости от генотипа по CYP2C9*2 C430T является новой. В литературе имеются отдельные публикации других авторов, которые определяли способность цитофлавина по-разному влиять на процесс апоптоза в клетках головного мозга животных — как индуцировать, так и подавлять его, что расценивалось авторами как умеренная модуляция процесса апоптоза [3]. Возможно, и в нашем случае следует говорить о способности цитофлавина модулировать стабильность ДНК в зависимости от исходного состояния генома. По результатам нашего исследования цитофлавин способен снижать уровень апоптоза лейкоцитов крови у пациентов с исходно более повреждённой ДНК, что наблюдается при носительстве полиморфного гена цитохрома CYP2C9*2 C430T. Количество апоптотических клеток, определённое методом ДНК-комет, коррелирует положительно и достоверно с показателями количества повреждённых клеток ($r = 0,53, p < 0,05$) и степени повреждения ДНК клеток ($r = 0,47, p < 0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о необходимости разработки персонализированных подходов к назначению цитофлавина в кардиологической практике, что требует проведения соответствующих клинических исследований.

ВЫВОДЫ

1. Среди пациентов города Белгорода (2010 – 2017 гг.) с ИБС обнаружили наличие генных полиморфизмов по аллелям цитохрома CYP2C9*2 C430T: 83 % пациентов (75 человек) оказались гомозиготны по диному аллелю (генотип CC), а 17 % (15 человек) — гетерозиготны (генотип CT), гомозиготных лиц по полиморфному аллелю (генотип TT) в выборке не обнаружено.

2. У пациентов с ИБС, имеющих полиморфный ген цитохрома CYP2C9*2 C430T (генотип CT), обнаружили ряд особенностей по сравнению с обладателями диного генотипа по данному аллелю (CC): более высокий функциональный класс стенокардии (различия на уровне тенденции), избыточная масса тела, относительно большая свёртывающая способность крови в пределах нормальных значений коагулограммы, более сильное повреждение ДНК: $(11,00 \pm 3,21)$ % повреждённых клеток в сравнении с $(3,43 \pm 1,13)$ % у пациентов с генотипом CC ($p = 0,02$).

3. Цитофлавин в терапевтической концентрации *in vitro* в условиях 3-часовой инкубации лейкоцитов кро-

ви пациентов с ИБС оказывал модулирующее влияние на процесс апоптоза лейкоцитов крови, изменяя состояние ДНК в зависимости от наличия полиморфизма гена CYP2C9*2 C430T: у пациентов с диным геном (генотипом CC) обнаружили незначительное увеличение количества апоптотических лейкоцитов крови, в то время как у пациентов с полиморфным геном (генотипом CT) обнаружили чёткую тенденцию снижения количества апоптотических клеток практически до нулевых значений показателя ($p = 0,087$).

Хочу выразить глубокую благодарность академику РАН, д.м.н. Кукесу В. Г., профессору, д.б.н. Поройкову В. В., профессору, д.б.н. Снегину Э. А., доценту, к.б.н. Закировой Л. Р. и доценту, к.тех.н. Румбешту В. В. за неоценимую помощь в выполнении данного исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. И. Асташкин, М. Г. Глезер, *Метаболические цитопротекторы и механизмы их действия*, Москва (2009).
2. Е. Е. Ачкасов, В. В. Куршев, С. Ф. Небожаева, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **80**(10), 36 – 39 (2017).
3. Е. Д. Бажанова, В. Н. Анисимов, Д. С. Суханов, Д. Л. Теплый, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **78**(2), 3 – 9 (2015).
4. С. А. Бойцов, *Проф. мед.*, № 5, 9 – 19 (2013).
5. В. П. Гейченко, А. В. Курята, О. В. Мужиль, *Сердечная недостаточность. Механизмы развития, роль нарушений метаболизма и адаптации, стратегии лечения: монография*, ЧП “Лири ЛТД”, Днепрпетровск (2007).
6. В. А. Доровских, Н. В. Симонова, Д. И. Переверзев и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **80**(4), 18 – 22 (2017).
7. А. Д. Дурнев, А. К. Жанатаев, Е. А. Анисина и др., *Применение метода щелочного гель-электрофореза изолированных клеток для оценки генотоксических свойств природных и синтетических соединений: Методические рекомендации*. Москва (2006).
8. Р. П. Корчагина, Л. П. Осипова, Н. А. Вавилова и др., *Бюл. СО РАМН*, **31**(6), 39 – 46 (2011).
9. Г. А. Ливанов, А. Т. Лоладзе, А. Н. Лодягин и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **80**(6), 30 – 33 (2017).
10. О. А. Махарин, *Живые и биокосные системы*, № 1 (2012); URL: <http://www.jbks.ru/archive/issue-1/article-9>.
11. А. А. Мойбенко, В. Е. Досенко, А. Н. Пархоменко, *Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца*, Наук. думка, Киев (2008).
12. М. И. Неймарк, И. А. Захарченко, Р. Б. Абдрашитов и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **80**(7), 28 – 31 (2017).
13. Д. И. Переверзев, Н. В. Симонова, В. А. Доровских и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **80**(1), 14 – 17 (2017).
14. О. В. Ромащенко, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **81**(6), 14 – 19 (2018).
15. Т. П. Сатаева, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **81**(1), 9 – 16 (2018).
16. Э. А. Снегин, О. В. Ромащенко, Е. С. Ненашева, *Способ прогнозирования индивидуальной эффективности и безопасности препаратов метаболического ряда по влиянию на геном человека в пробах in vitro*, Свидетельство № 90 о регистрации в качестве ноу-хау результата интеллектуальной деятельности, Белгород, НИУ “БелГУ” (2012).
17. J. Laval, *Pathol. Biol. (Paris)*, **44**(1), 14 – 24 (1996).
18. C. Lee, J. A. Pieper, R. Frye, et al., *J. Clin. Pharmacol.*, **43**(1), 84 – 91 (2003).
19. <http://www.helix.ru/kb/item/18-018>.

20. A. E. Rettie, J. P. Jones, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **45**, 477 – 494 (2005).
21. S. Sanderson, J. Emery, J. Higgins, *Genet. Med.*, **7**(2), 97 – 104 (2005).
22. A. A. Spector, Hee-Yong Kim, *Biochim. Biophys. Acta*, **1851**(4), 356 – 365 (2015).

Поступила 14.01.19

INFLUENCE OF CYTOFLAVIN ON APOPTOSIS OF BLOOD LEUKOCYTES IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE DEPENDING ON THE POLYMORPHISM OF CYTOCHROME CYP2C9 GENE ACCORDING TO *IN VITRO* TESTING DATA

O. V. Romashchenko^{1,2}¹ Belgorod State University, ul. Pobedy 85, Belgorod, 308015 Russia² Medical Research Institute, Belgorod State University, ul. Pobedy 85, Belgorod, 308015 Russia

In order to determine the character of the effect of cytoflavin on the apoptosis of blood leukocytes in patients with ischemic heart disease (IHD) depending on polymorphism of cytochrome CYP2C9*2 C430T gene, 90 patients with IHD diagnosis (stable angina pectoris) were examined. The polymorphism of cytochrome CYP2C9*2 C430T was determined by polymerase chain reaction. The effect of cytoflavin at therapeutic concentrations on the DNA of blood leukocytes in patients was estimated using the comet assay, which makes it possible to estimate the level of apoptosis of white blood cells according to the method of *in vitro* tests developed by us. The frequency analysis of CYP2C9*2 C430T gene revealed 75 patients (83%) homozygous for the wild allele (CC genotype) and 15 patients (17%) heterozygous (genotype CT), while homozygous patients for the polymorphic allele (TT genotype) were not found in the group studied. Carriers of the polymorphic cytochrome CYP2C9*2 C430T gene (CT genotype) had a higher functional class of angina, excessive body weight, tendency to hypercoagulable blood, and stronger DNA damage in the initial status: $11.00 \pm 3.21\%$ of damaged cells compared to $3.43 \pm 1.13\%$ in patients with SS genotype ($p = 0.02$). Upon the introduction of cytoflavin at a therapeutic concentration, a tendency to multidirectional changes in the state of DNA was found in blood leukocytes *in vitro*, depending on the presence of CYP2C9*2 C430T gene polymorphism. Thus, in patients with wild-type CYP2C9*2 C430T, cytoflavin administration showed *in vitro* an increase in the number of apoptotic blood leukocytes by 0.3% ($p = 0.05$), while in patients with the CYP2C9*2 N430O polymorphic gene (genotype CT) a clear tendency to reduce the number of apoptotic cells to almost zero indicator values was found ($p = 0.087$), which makes it possible to put forward a hypothesis about the possible ability of cytoflavin to modulate DNA stability depending on the initial state of genome and the need to develop personalized approaches to the use of cytoflavin in patients with IHD diagnosis in clinical practice.

Keywords: pharmacogenetics; CYP2C9*2 C430T gene; polymorphism; ischemic heart disease; metabolic correctors; cytoflavin; personalized medicine; *in vitro* testing.